

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Speciální chemicko-biologické obory
Molekulární biologie a biochemie organismů



Daniel Vašek

Imunologické mechanismy zánětlivé bolesti
Immune mechanisms in inflammatory pain

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Magdaléna Krulová, Ph.D.

Praha, 2017

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 10.05.2017

Daniel Vašek

Poděkování

Děkuji své školitelce RNDr. Magdaléně Krulové, Ph.D. za cenné rady, vstřícnost a trpělivost. Zároveň chci poděkovat rodině, své přítelkyni a kamarádům za nekonečnou podporu a motivaci při psaní práce.

Abstrakt

Bolest je jedním z pěti příznaků zánětu. Aktivaci a regulaci bolesti ovlivňuje nervový systém společně se systémem imunitním. Produkci zánětlivých mediátorů je snížena prahová hodnota pro aktivaci iontových kanálů periferních nociceptorů, které potom mají za následek bolestivé vjemy i na jindy nebolestivé podněty. Takovými mediátory jsou cytokiny, bradykinin, prostaglandiny nebo různé neurotrofní faktory. Tato práce si klade za cíl vysvětlit funkci imunitních buněk při produkci těchto zánětlivých a bolestivých modulátorů. Studium aktivace a senzibilizace nociceptorů při zánětu je důležité pro pochopení celého mechanismu zánětlivé bolesti, stejně tak jako pro komplexní pochopení neuroimunitního systému. Pochopení může vést k vývoji specifických léčiv proti zánětlivé bolesti.

Klíčová slova: zánět, bolest, zánětlivá bolest, imunitní systém, neuroimunitní systém

Abstract

Pain is one of the five symptoms of inflammation. Activation and regulation of pain are affected both by the nervous system and the immune system. The production of inflammatory mediators decreases the threshold for activation of the ion channels of peripheral nociceptors, which then result in painful sensations caused by otherwise innocuous stimuli. Such mediators are cytokines, bradykinin, prostaglandins or various neurotrophic factors. This work aims to explain the function of immune cells in the production of these inflammatory and painful modulators. The study of activation and sensitization of nociceptors in inflammation is important for the understanding of the whole mechanism of inflammatory pain as well as for a comprehensive understanding of the neuroimmune system. Understanding inflammatory pain can lead to the development of specific drugs against it.

Key words: inflammation, pain, inflammatory pain, immune system, neuroimmune system

Obsah

Seznam použitých zkratk	1
1. Úvod a cíle práce	3
2. Imunitní systém	3
2.1. Nespecifická imunita	3
2.2. Specifická imunita	4
3. Nervový systém	4
3.1. Bolest	4
3.2. Nocicepce	5
4. Propojení imunitního a nervového systému	7
4.1. Zánět	8
5. Receptory a kanály	9
5.1. TRP kanály	9
5.2. ASIC kanály	10
5.3. Purinergní receptory	10
5.4. Napětově řízené iontové kanály	10
5.4.1. Napětově řízené sodíkové kanály	10
5.4.2. Napětově řízené vápníkové kanály	11
6. Mediátory a modulátory bolesti	11
6.1. Bradykinin	12
6.2. Prostaglandiny	13
6.3. Histamin	14
6.4. Serotonin	14
6.5. Cytokiny	14
6.5.1. Interleukin 1	15
6.5.2. Interleukin 6	15
6.5.3. Faktor nádorové nekrózy	16
6.6. Neurotrofní faktory	16
7. Imunitní buňky a bolest	17
7.1. Žírné buňky	17
7.2. Neutrofily	19
7.3. Makrofágy	19
7.4. T-buňky	20

8. Produkce imunitních mediátorů neimunitními buňkami	20
9. Inhibice periferní senzibilizace	21
9.1. Nesteroidní protizánětlivé léky	21
9.2. Opiody	21
10. Závěr	22
Seznam použité literatury	23

Seznam použitých zkratk

5-HT	serotonin
ADP	adenosindifosfát (adenosine diphosphate)
AMP	adenosinmonofosfát (adenosin monophosphate)
ASIC	acid-sensing ion channel
ATP	adenosintrifostát (adenosine triphosphate)
BDNF	brain-derived neurotrophic factor
cAMP	cyklický adenosinmonofosfát (cyclic adenosine monophosphate)
CCL	chemokin CCL (chemokine (C-C motif) ligand)
CGRP	kalcitoninu příbuzný peptid (calcitonin gene-related peptide)
CNS	centrální nervová soustava
COX	cyklooxygenáza (cyclooxygenase)
CXCL	C-X-C chemokinový ligand (chemokine (C-X-C motif) ligand)
CXCR	C-X-C chemokinový receptor (chemokine (C-X-C motif) receptor)
DC	dendritická buňka (dendritic cell)
GIT	gastrointesticiální trakt
GM-CSF	granulocytární makrofágový stimující faktor (granulocyte/macrophage colony-stimulating factor)
GPCR	receptor spojený s G-proteinem (G protein-coupled reeptor)
IASP	Mezinárodní organizace pro studium bolesti (International Association for the Study of Pain)
IFN	interferon
IL	interleukin
IL-R	receptor pro interleukin (interleukin receptor)
NF-κB	transkripční nukleární faktor kappa B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells)
NGF	nervový růstový faktor (nerve growth factor)
NK buňky	přírození zabíječi (natural killer cells)
NSAID	nesteroidní protizánětlivé léky (nonsteroidal anti-inflammatory drug)
P2X	purinergní receptor (purinoreceptor)
PGE	prostaglandin E
PNS	periferní nervová soustava

PRR	receptory rozeznávající molekulové vzory (pattern recognition receptors)
RTK	receptor tyrozin kináza (receptor tyrosine kinases)
Tc	cytotoxický T-fymfocyt (cytotoxic T cell)
Th	pomocný T-lymfocyt (T hellper cell)
TLR	toll-like receptor
TNF	faktor nádorové nekrózy (tumor necrosis factor)
Treg	regulační T-lymfocyt (regulatory T cell)
TrkA	tropomyozin receptorová kináza A (ropomyosin receptor kinase A)
TRP	transient receptor potential
TRPV	vaniloidní receptory
TTX-R	kanál rezistentní na tetrodotoxin (tetrodotoxin-resistant channel)
TTX-S	kanál citlivý na tetrodotoxin (tetrodotoxin-senzitive channel)

1. Úvod a cíle práce

Studium bolesti je důležité pro pochopení jejích principů, mechanismů vzniku a regulace, a případného omezení nebo inhibici tohoto nepříjemného vjemu. Existují různé typy bolesti vznikající za různých fyziologických situací. Jednou z těchto situací je zánět a s ním spojená zánětlivá bolest. Bolest je reakcí vznikající v nervovém systému, avšak zdá se, že to tak úplně neplatí u zánětlivé bolesti. Zánět vniká pod taktovkou imunitního systému a zánětlivá bolest je s těmito mechanismy úzce spjata. Cílem této práce je shrnutí současných poznatků o propojení imunologických mechanismů při zánětu spolu s tvorbou bolesti a ovlivňování nervového systému. Propojení systémů v komplexní neuroimunitní systém se zdá důležitější, než se dříve předpokládalo.

2. Imunitní systém

Úkolem imunitního systému je ochrana organismu před patogeny a abnormálními buňkami, ať už se jedná o buňky poškozené, či o buňky nádorové. Imunitní systém zajišťuje integritu organismu tím, že rozeznává pro organismus škodlivé nebo potencionálně nebezpečné od neškodlivého. Tato funkce se projevuje jako obranyschopnost a autotolerance. Imunita se dělí na dvě základní složky - imunitu vrozenou a imunitu získanou.

2.1. Nespecifická imunita

Nespecifická imunita, nebo též vrozená či neadaptivní imunita je tvořena buněčnými a humorálními mechanismy. Hlavním buněčným mechanismem jsou cytotoxické přirození zabíječi (NK-buňky, natural killer cells) a buňky fagocytující (makrofágy a neutrofilní granulocyty). Mezi humorální mechanismy patří systém komplementu a různé imunologicky aktivní molekuly jako například lektiny nebo interferony (Ikeda et al., 1987). Aktivaci spouští antigen opsonizovaný imunoglobulinem G a nebo k ní dochází přes rozeznávání různých chemických struktur charakteristických pro mikroorganismy. K rozeznávání těchto struktur slouží receptory rozeznávající molekulové vzory (PRR, z angl. pattern recognition receptors), například Toll-like receptory (TLR) (Gordon, 2002).

Nespecifická imunita se vyznačuje rychlou aktivací (řádově minuty) a chybějící pamětí oproti imunitě specifické. Do této složky se dají také zařadit mechanismy zcela základní, jako například neporušený povrch sliznic a kůže, který brání proniknutí patogenů do těla organismu.

Antigen prezentující buňky, jak již název vypovídá, jsou buňky, které na svém povrchu vystavují antigen. Mezi takové buňky patří buňky dendritické (DC). Díky této vlastnosti mohou aktivovat imunitní odpověď založenou na adekvátním typu T buněk, neboť komunikují s pomocnými T-lymfocyty (Th) v lymfatických tkáních (Grouard et al., 1996).

2.2. Specifická imunita

Specifická imunita, též adaptivní nebo získaná je založena na specifických receptorech pro antigen. Buňky adaptivní imunity jsou schopny si odpověď zapamatovat a vytvořit imunologickou paměť. Při opětovném kontaktu s antigenem dojde k rychlému spuštění imunitní reakce. Specifickou imunitu vytváří lymfocyty, které dělíme na B a T buňky. B-lymfocyty zajišťují látkovou (humorální) imunitu - tzn. produkují protilátky. Jejich proliferací po rozpoznání antigenu vznikají paměťové a plasmatické buňky. T-lymfocyty jsou imunokompetentní buňky, které zajišťují buněčnou imunitu. Existují různé subpopulace - cytotoxické T-lymfocyty, pomocné T-lymfocyty a regulační T-lymfocyty (Iwasaki and Medzhitov, 2015).

3. Nervový systém

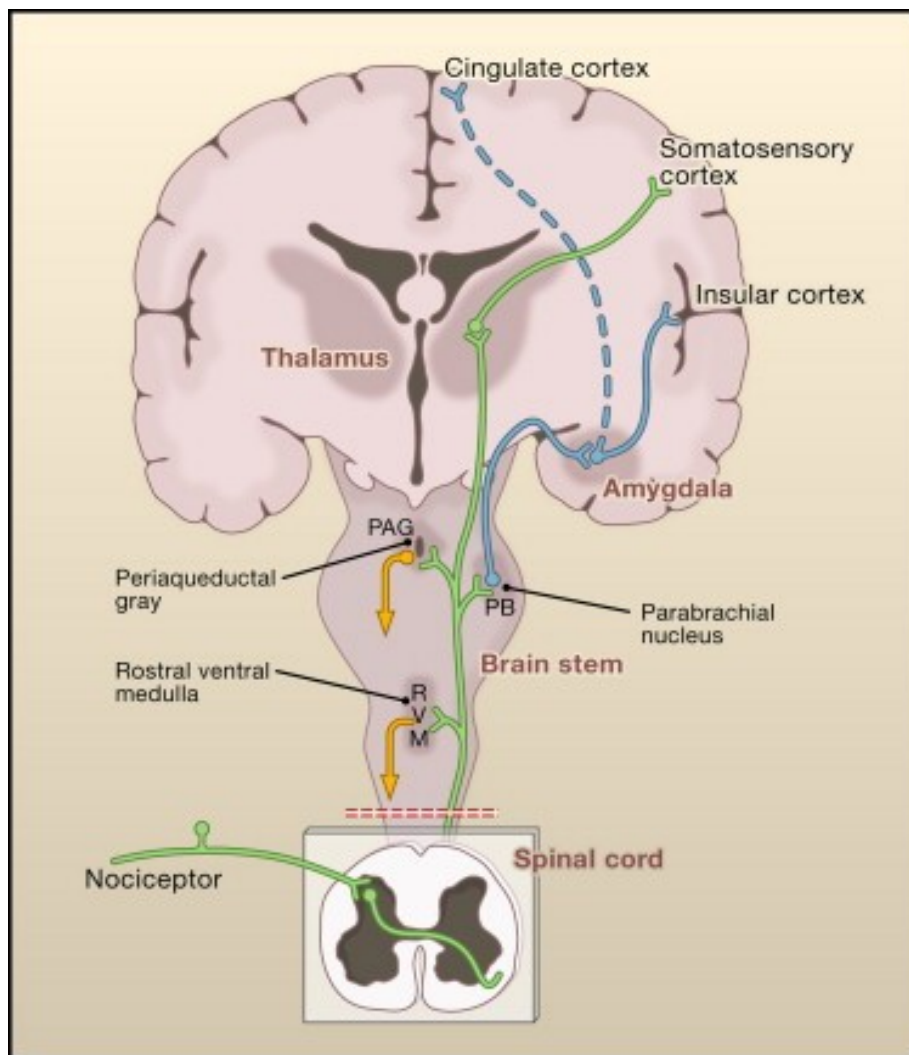
Nervová soustava zpracovává podněty působící na organismus. Zajišťuje přenos a zpracování informace, a odpovídající reakci. Nervová soustava je u obratlovců rozdělována na centrální nervovou soustavu (CNS) a periferní nervovou soustavu (PNS). CNS tvoří mozek a mícha. PNS zahrnuje všechny ostatní části nervového systému, které neleží v CNS, tzn. velkou většinu nervů.

3.1. Bolest

Bolest je nepříjemný pocit zprostředkovaný nervovým systémem a mozkovou kůrou, který souvisí s poškozením tkáně. Všeobecně uznávanou definicí bolesti je dle Mezinárodní organizace pro studium bolesti (IASP, z angl. International Association for the Study of Pain): "Bolest je nepříjemná a emocionální zkušenost spojená s aktuálním nebo potencionálním poškozením nebo se jako taková popisuje." ¹

¹ Odkaz na internetové stránky IASP s definicí bolesti: <http://www.iasp-pain.org/Taxonomy#Pain>

Bolest je vyvolána drážděním periferních nervových vláken citlivých na bolest. Podrážděním těchto vláken vznikne biochemická reakce. Vzruch je veden aferentními vlákny do thalamu a poté do ústřední mozkové kůry, kde dojde ke zpracování signálu (Apkarian et al., 2005) (Obrázek 1).



Obrázek 1, Cesta bolestivého podnětu

Primární aferentní nociceptory předají informaci o podnětu uvnitř dorzálního rohu míchy. Odtud je informace vedena neurony přes somatosenzorickou kůru do thalamu. V thalamu je předána informace o umístění a intenzitě podnětu. Jiné neurony zapojí cingulární a insulární mozkovou kůru přes amygdalu, což přispěje k uvědomění bolesti. (Basbaum et al., 2009)

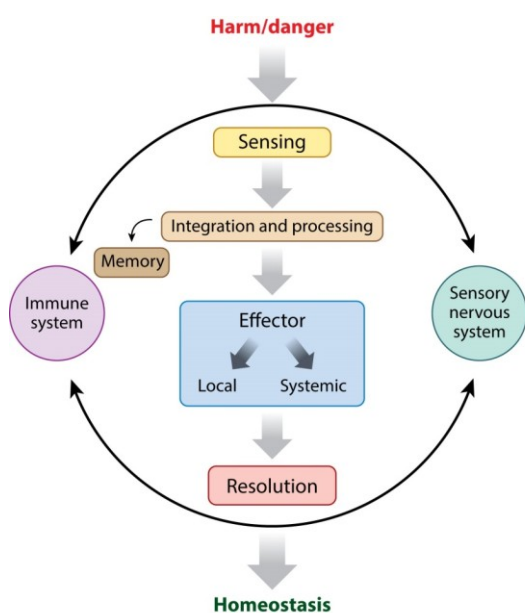
3.2. Nocicepce

Nociceptory (receptory bolesti) obsahují všechny tkáně v těle kromě jater a mozku. Jsou to volná zakončení periferních axonů periferních neuronů, jejichž somata leží v gangliích

zadních kořenů a v jádrech n. trigeminu. Dle Sherringtona, který roku 1906 nociceptory objevil, detekují intenzivní tepelné, mechanické nebo chemické podněty, ale pouze tehdy, pokud stimulační intenzita přesáhne prahovou hodnotu. To znamená, že mají vlastnosti, které jim umožňují selektivně detekovat a reagovat na potencionálně škodlivé podněty. Existují tři hlavní třídy nociceptorů. První třída jsou myelinizovaná vlákna A δ pro rychlou, dobře lokalizovatelnou nebo krátkou bolest (5 - 30 ms⁻¹). Druhá třída jsou pomalu vedoucí nemyelinizovaná C-vlákna (méně než 1 ms⁻¹), která vyjadřují špatně lokalizovatelnou, tupou, následnou bolest. Třetí třídou jsou silně myelinizovaná vlákna A α /A β . Tato vlákna zprostředkovávají dotekové a hmatové podněty (30 - 70 ms⁻¹), a zároveň vedou ostrou bolest (LaMotte et al., 1991; Schmelz et al., 1997).

Nociceptory obsahují receptory pro signální látky, které tlumí (desenzibilizují) nebo naopak podporují (senzibilizují) podráždění. Ihned po aktivaci nociceptorů dochází k uvolňování neuropeptidů, jako je substance P nebo kalcitoninu příbuzný peptid (CGRP, z angl. calcitonin gene-related peptide), které podporují zánět okolních cév: neurogenní zánět (Cuesta et al., 2002).

Senzibilizace způsobená zánětem vede k tomu, že prahová hodnota pro nocicepční podněty klesá (tento jev se označuje jako hyperalgie) a také k tomu, že neškodné podněty jako například lehké doteky nebo slabé tepelné podněty vyvolají bolest (tento jev se označuje jako alodynie) (LaMotte et al., 1991).

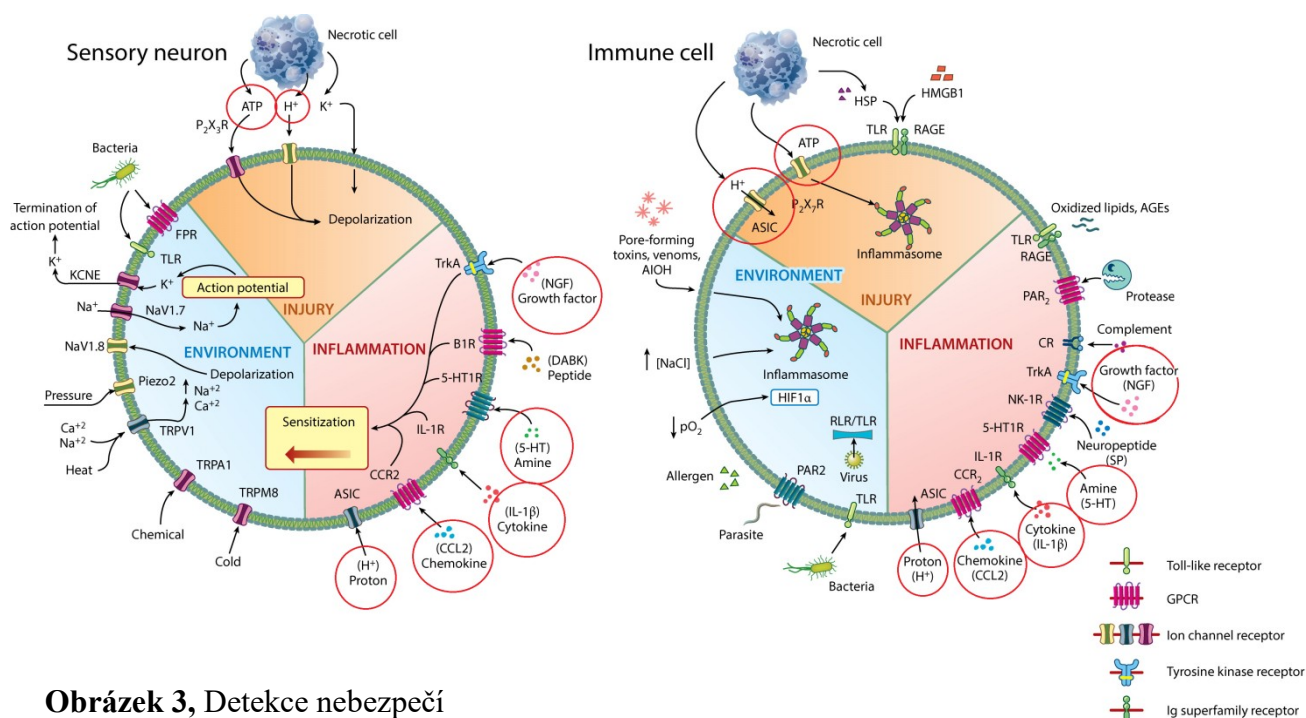


Obrázek 2, Schématické znázornění reakcí imunitního a senzorkého nervového systému

Oba systémy mají specifické receptory pro detekci možných hrozeb. Informace získané z těchto receptorů jsou zpracovány a poté je vyvolán odpovídající efekt. Efekt může být jak lokální, tak systémový. Mimo to je informace integrována také do paměti. Vyvolané reakce mají za úkol vyřešit problém a obnovit tkáňovou homeostázu. Mediátory sdílené mezi systémy umožňují vzájemnou integraci systémů na každé úrovni. (Talbot et al., 2016)

4. Propojení imunitního a nervového systému

Imunitní a nervový systém jsou obecně studovány odděleně a to z důvodu odlišných struktur a funkcí. Nicméně oba systémy spolu často a velmi úzce spolupracují. Například právě nociceptory spolu s imunitními buňkami mohou přímo detekovat bakterie (Chiu et al., 2013). Imunitní buňky zvyšují citlivost nociceptorů, stejně jako na druhou stranu mohou nociceptory měnit funkci imunitního systému. Oba systémy mají schopnost rozlišit vnější a vnitřní prostředí, mohou detekovat nebezpečí a koordinovat odpovídající obranou funkci. Specifické rysy obou systémů jsou si vzájemně komplementární, takže při spolupráci obou systémů je dosaženo větší účinnosti (Obrázek 2 a 3) (Chiu et al., 2013). Komunikace probíhá prostřednictvím receptorů na buněčných površích, G proteinů a tyrosin kináz, které umožňují reagovat na signály. Například cytokin produkovaný imunitním systémem, jako třeba interleukin (IL) 1, je detekován receptorem pro interleukin (IL-R) 1 na nociceptorech. Detekce IL-1 aktivuje signální kaskádu, která na konci způsobí bolest (Binshtok et al., 2008). Nicméně výsledkem kooperace imunitního a nervového systému bývá v patologických stavech zánět (Binshtok et al., 2008; Chiu et al., 2013).



Obrázek 3, Detekce nebezpečí

Vlevo je zobrazen senzorický neuron, vpravo imunitní buňka. Pod oranžovým polem je označeno zranění, pod modrým polem vnější prostředí a pod červeným zánět. V červených kroužcích jsou zvýrazněny molekuly, které mají stejné receptory jak na neuronech, tak na imunitních buňkách. Při zranění se jedná o ATP a proton H^+ . V případě zánětu je toto propojení systému největší a jedná se o molekuly NGF, cytokiny, chemokiny, serotonin (5-HT) a protony. (Talbot et al., 2016)

4.1. Zánět

Zánět je soubor obranných dějů. Jedná se o komplexní mechanismus zahrnující přirozené imunitní děje, které reagují nejčastěji na poškození tkáně způsobené mikroorganismy. Patogenní mikroby spouštějí komplementovou kaskádu a spolu s tím začínají fagocytární děje. Fagocyty jsou na místo atrahovány chemotaktickými produkty mikrobů např. formylované tripeptidy (Feng et al., 1998), ale také složkami komplementu (C3a, C5a). Tyto látky spolu s ligandy TLR fagocyty aktivují (Krutzik et al., 2005; West et al., 2011).

Existují dvě skupiny zánětů, záněty specifické a nespecifické. Specifické záněty jsou charakteristické pro vyvolávající agens, naproti tomu záněty nespecifické jsou uniformní a z morfologie nejde usuzovat konkrétní agens. Dle délky trvání se poté dají záněty dělit na akutní a chronické. Akutní záněty se většinou obejdou bez následků, tzn. dojde k úplné regeneraci tkáně. Trvají maximálně dva týdny. Chronický zánět trvá déle (více než šest týdnů). Dochází při něm k poškození tkáně a jejímu nahrazení vazivem.

Římský lékař Celsus popsal již ve starověku čtyři projevy místního zánětu, proto se dnes označují jako Celsovy příznaky. Jsou to calor - vyšší teplota, tumor - otok neboli zduření, rubor - zarudnutí a dolor - bolest. Právě bolestí se primárně zabývá tato práce v dalších kapitolách. Pátý projev zánětu byl popsán později a označuje se jako functio laesa, což znamená, že zanícená tkáň funguje špatně, protože dochází k útlumu nebo naopak ke zvýšené funkci tkáně (Rather, 1971).

Vyšší teplota a zarudnutí v místě zánětu je způsobeno rozšířením cév a vyšším prokrvením tkáně. Otok je důsledkem úniku tekutiny z dilatovaných a propustných cév. Ke špatnému fungování tkáně dochází kvůli zasažení okolních zdravých buněk toxickými produkty mikrobů, produkty fagocytů (volné radikály apod.), ale také i přehnanou aktivitou komplementu.

Za velkou část výše uvedených jevů je zodpovědný histamin. Histamin je uvolňován při degranulaci žírných buněk přítomných v místě zánětu, kterou startují štěpy aktivovaného komplementu (C3a, C5a), které jsou označovány jako chemotaxiny (Ezekowitz et al., 1984). Imunitní buňky reagují na neuropeptidy (například substance P), neurotrofní růstové faktory (nervový růstový faktor (NGF)) a neurotransmitery (například serotonin) (Cuesta et al., 2002; Hepburn et al., 2014). To ukazuje, že tyto molekuly mají nejen neurální původ, ale také

imunitní. Jejich signály vedou k zesílení zánětu, další produkci cytokinů a rekrutování dalších imunitních buněk. Neurony mohou naopak detekovat faktory produkované imunitními buňkami: IL-1, faktor nádorové nekrózy (TNF, z angl. tumor necrosis factor) α , histamin nebo prostaglandin E (PGE) 2. Detekce těchto zánětlivých molekul na nociceptorech vede k bolesti (prostřednictvím IL-1, TNF- α a PGE2) a svědění (prostřednictvím histaminu) (Samad et al., 2001; Vardeh et al., 2009; Wagner and Meyers, 1996).

Cytokiny produkované v místě zánětu ovlivňují i vzdálené orgány. Mohou to být cytokiny produkované fagocytujícími buňkami - např. TNF, IL-1, IL-6 (Cuesta et al., 2002) nebo granulocytární makrofágový stimulující faktor (GM-CSF) (Nathan, 1987). Cytokiny v játrech ovlivňují tvorbu tzv. bílkovin akutní fáze zánětu. Díky těmto bílkovinám se mění vlastnosti krve (zvýšená sedimentace erytrocytů), a tak jsou ovlivněny i imunitní reakce (Fattori et al., 1994). Například prostřednictvím IL-1, který ovlivňuje termoregulační centrum v hypotalamu a způsobuje horečku nebo pomocí GM-CSF, který způsobuje v kostní dřeni vyplavování a dozrávání leukocytů. Všechny tyto efekty ovlivňují zánět. Zvýšená teplota urychluje zabíjení mikrobů ve fagocytech a zvýšený přísun leukocytů zajišťuje náhradu vyčerpaných buněk (Cook et al., 2012; Dinarello et al., 1977).

5. Receptory a kanály

Následující kapitola shrnuje poznatky o receptorech a kanálech, jejichž funkce je spojená s detekcí škodlivých stimulů.

5.1. TRP kanály

Transient receptor potential (TRP) jsou iontové kanály neselektivně propustné pro kationty, které jsou děleny do různých skupin. Podskupina TRP vaniloidních receptorů (TRPV) je nejvíce angažována v bolesti. TRPV1 detekuje a reguluje tělesnou teplotu, zároveň i zprostředkovává pocit bolesti (nocicepce). Nejznámějšími aktivátory TRPV1 jsou: teplota vyšší než 43°C, kyselé prostředí, látka kapsaicin (aktivní pálivá složka chilli papriček), hořčice nebo wasabi (Caterina et al., 1997; Story et al., 2003). Při poškození tkáně a následném zánětu se v těle uvolňuje bradykinin a prostaglandiny. Tato činidla vytváří hyperalgezií uvnitř tkáně (Davis et al., 2000; Tóth et al., 2011) a posléze dochází k alodynii. Tento proces senzibilizace významně souvisí se snížením prahu aktivace TRPV1 nebo TRPA1 (Bautista et al., 2006; Caterina, 2000; Goswami et al., 2014; Kwan et al., 2006).

Je zajímavé, že tyto receptory jsou exprimovány i na buňkách imunitního systému. Makrofágy exprimují TRPV2, přes které lze modulovat jejich chemotaxi (Link et al., 2010). Některé populace T-buněk exprimují TRPV1. Aktivace TRPV1 potom hraje roli při jejich proliferaci (Bertin et al., 2014).

5.2. ASIC kanály

Acid-sensing ion channel (ASIC) jsou kanály pro Na^+ kationty aktivované extracelulárními protony H^+ . Právě nízké pH je typické pro zánět. Subtyp kanálu ASIC3 (někdy také označován DRASIC) je hojně exprimován na nociceptorech, kde vykazuje bifázický proud po aktivaci protonem (Waldmann et al., 1997a, 1997b). Kromě reakce ASIC na kyselé prostředí mají také za následek mechanosenzitivitu (Waldmann and Lazdunski, 1998).

5.3. Purinergní receptory

Adenosin a jeho fosfátové deriváty (ATP, ADP a AMP) se do extracelulárního prostoru dostávají z poškozených, prasklých nebo mrtvých buněk. ATP se váže na purinergní receptor P2X, který je ligandem řízený iontový kanál a spouští nocicepční odpověď (Burnstock, 1996; Burnstock and Wood, 1996). Konkrétně vazba na receptor P2X7 na makrofázích vede k aktivaci inflamazómu a produkci IL-1 (Mariathasan et al., 2006), stejně tak ale ovlivňuje i mechanickou hyperalgezii zprostředkovanou bradykininem (Teixeira et al., 2014, 2017). Naopak receptor P2X3 je exprimován na nociceptorech, kde po jeho aktivaci ligandem (ATP) dojde k depolarizaci membrány a vzniku akčního potenciálu bolesti (Cook et al., 1997).

5.4. Napětově řízené iontové kanály

Napětově řízené iontové kanály mají široké uplatnění v organismu. Používají se k vedení bolesti, generují akční potenciál, uvolňují neurotransmitery nebo generují bolest (především akutní bolest). Existují rodiny kanálů sodíkových, vápenatých či draselných. Největší roli při generování bolesti mají sodíkové a vápníkové kanály.

5.4.1. Napětově řízené sodíkové kanály

Různé napětově řízené sodíkové kanály můžeme nalézt na senzoričských neuronech, včetně citlivých na tetrodotoxin (TTX-S) s názvy $\text{Na}_v1.1$, $\text{Na}_v1.6$, a $\text{Na}_v1.7$. Na nociceptorech se vyskytují i kanály rezistentní na tetrodotoxin (TTX-R) a to kanály $\text{Na}_v1.8$ a $\text{Na}_v1.9$

(Akopian et al., 1999; Gold et al., 1996). Mutace vedoucí ke ztrátě funkce kanálu $Na_v1.7$ u člověka způsobují neschopnost detekovat škodlivé stimuly. Lidé potom trpí zraněními v důsledku nedostatku obranných reflexů. Naproti tomu mutace vedoucí ke změně funkce v $Na_v1.7$ způsobují zvýšenou funkci kanálu, což způsobuje erytromelalgii nebo záchvaty extrémní bolesti (Estacion et al., 2008; Yang et al., 2004). Na zvířecích modelech byly prokázány důležité funkce $Na_v1.7$ při zánětu. Studie provedené na myších postrádajících $Na_v1.7$ na C nociceptorech naznačují klíčovou roli $Na_v1.7$ při mechanické a tepelné hypersenzitivitě, stejně jako při akutní reakci na škodlivé mechanické stimuly (Nassar et al., 2004). Při periferním zánětu se mění funkce kanálu $Na_v1.9$, i u něj dochází k hypersenzitivitě (Amaya et al., 2006).

$Na_v1.8$ je též hojně exprimován na většině C nociceptorů. Stejně jako $Na_v1.7$, i $Na_v1.8$ reaguje na teplo a mechanické stimuly. Jeho aktivita je spojována s neuropatickou bolestí a bolestí při chronickém zánětu (Akopian et al., 1999; Kerr et al., 2001). Zajímavé ovšem je, že tento kanál je užíván i pro přenos studeného podnětu a není při nízké teplotě deaktivován (Zimmermann et al., 2007).

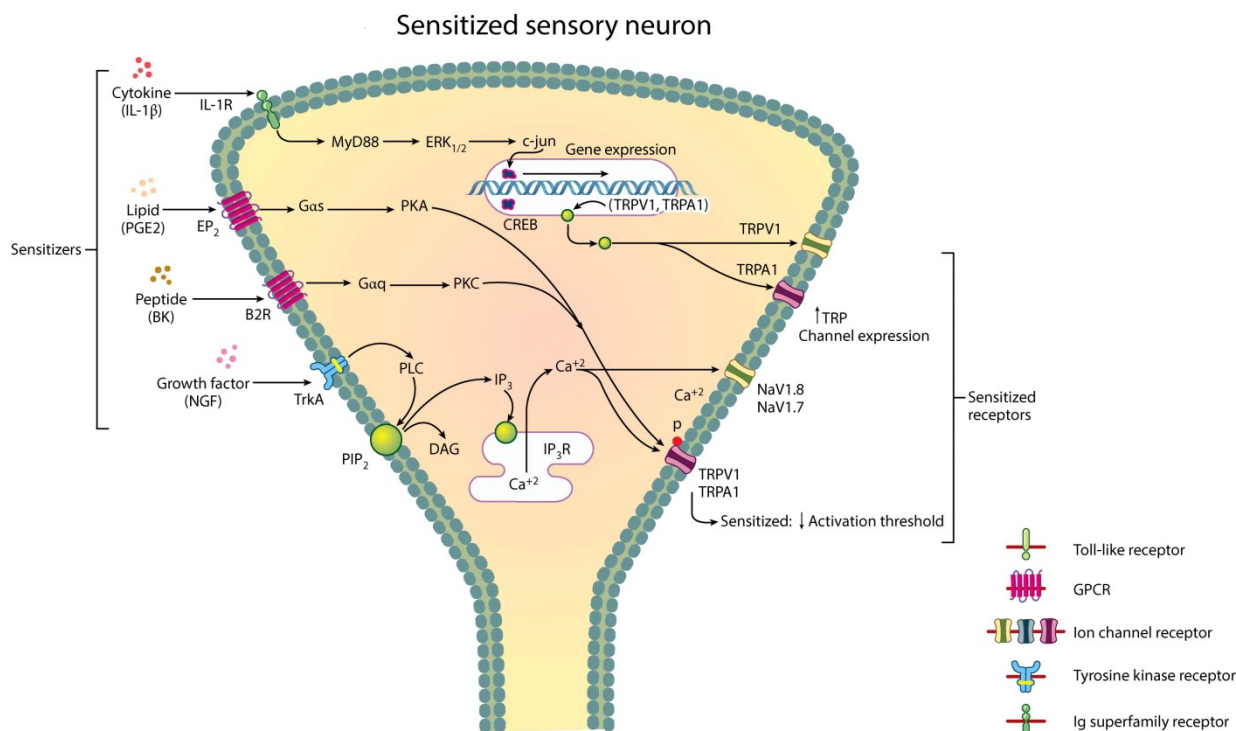
5.4.2. Napětově řízené vápníkové kanály

Na nociceptorech jsou exprimovány typy N, P/Q a T napětově řízených vápníkových kanálů. Funkce P/Q typu ještě není zcela vyjasněna. N a T typy kanálů jsou exprimovány na C nociceptorech. Jejich regulace je změněna převážně v patologických stavech. Zvířata, kterým chybí kanály $Ca_v2.2$ nebo $Ca_v3.2$ vykazují slabší senzibilizaci na tepelné podněty, což značí, že mají úlohu při zprostředkovávání zánětu (Bourinet et al., 2005; Kerckhove et al., 2014; Messinger et al., 2009).

6. Mediátory a modulátory bolesti

Následující kapitola je zaměřena na molekuly, které při zánětu mají funkci ve zprostředkování bolesti. Jedná se především o molekuly, které ovlivňují přecitlivělost nervového systému, která je základem zánětlivé bolesti. Bolest je tak důsledkem regulačních modifikací, převážně fosforylace membránových G-proteinů, kterou mají za následek právě zánětlivé mediátory z poškozených buněk (bradykinin, ATP, volné ionty). Dochází například k aktivaci dráhy kyseliny arachidonové, která vede ke vzniku prostaglandinů. Také imunitní buňky uvolňují mediátory (cytokiny, růstové faktory). Některé tyto molekuly aktivují přímo

nociceptory, některé aktivují dráhy vedoucí k produkci dalších bolest indukujících činidel (Premkumar and Ahern, 2000; Samad et al., 2001) (Obrázek 4).



Obrázek 4, Sensibilizace neuronu

V levé části jsou mediátory, v pravé potom sensibilizované kanály. Uvnitř neuronů jsou potom naznačený signální kaskády vedoucí k těmto změnám. (Talbot et al., 2016)

6.1. Bradykinin

Bradykinin je zánětlivý mediátor, peptid, který způsobuje dilataci cév. Biologická aktivita kininů (bradykininu a příbuzného peptidu kallidinu) je spojena s dvěma typy receptorů - B1 a B2 receptory. Oba receptory jsou spřažené s G-proteiny (Levy and Zochodne, 2000). B2 receptory jsou exprimovány na širokém spektru buněčných typů, včetně nociceptorů. B1 receptory nejsou ve tkáních stále, ale jsou exprimovány *de novo* při poranění tkáně. Exprese B1 receptoru je stimulována uvolňováním cytokinů z imunokompetentních buněk v poškozené tkáni (Haddad et al., 2000; Vellani et al., 2004). Vazba bradykininu na receptor poté vede ke zvýšení koncentrace cytosolických iontů vápníku a tím pádem k zánětlivé reakci organismu (Fox et al., 2003). Bradykinin totiž působí částečnou

senzibilizaci nebo otevření TRPV1 kanálu (Ferreira et al., 2004). K tomu dochází aktivací fosfolipázy C přes G-protein. Vzniklý 1,2-diacylglycerol je druhý posel a aktivuje protein kinázu C na sensorických neuronech, kde dojde k depolarizaci a otevření kanálu TRPV1 a následné hyperalgesii (Premkumar and Ahern, 2000).

Je také potvrzeno, že B1 receptor má úlohu při atrahování neutrofilů během zánětu. Jeho aktivace vede k produkci C-X-C chemokinového ligandu (CXCL) 5, který má chemotaktické a aktivační účinky na neutrofile, zejména při akutní zánětlivé reakci (Duchene et al., 2007).

Aktivace TRPV1 nevysvětluje všechny účinky bradykininu. Agonisté B receptorů generují prostaglandiny v nervové soustavě, které tak mohou stimulovat sensorické nervy působením i na jiné typy kanálů (Vardeh et al., 2009).

6.2. Prostaglandiny

Prostaglandiny jsou důležitými mediátory zánětu, horečky a bolesti. Jsou syntetizovány enzymem cyklooxygenázou (COX) 1, případně jeho izoformou COX-2. COX-2 je inducibilní enzym, jehož množství stoupá na základě působení zánětlivých faktorů produkovaných imunitními buňkami. Tyto enzymy zajišťují přeměnu kyseliny arachidonové na tromboxany a již zmíněné prostaglandiny (Garavito and Dewitt, 1999).

Prostaglandiny mají vasodilatační funkci a inhibují agregaci krevních destiček. Jedním z nejvýznamnějších prostaglandinů je prostaglandin E (PGE) 2, produkovaný COX-2. Jedná se o jeden z nejznámějších senzibilátorů periferního nervstva, který má také vliv na vznik horečky. Při rozšíření infekce do krevního oběhu začnou makrofágy v játrech a slezině produkovat IL-1, který indukuje v mozku tvorbu COX-2 (Samad et al., 2001). COX-2 poté vytváří PGE2, který zvýší teplotu těla. Horečka aktivuje sympatické nervy, což vede ke zvýšení srdeční frekvence a krevního tlaku, zvýší se průtok krve ve tkáních a usnadní se tak přístup imunitních buněk (Davatelis et al., 1989; McAdam et al., 2000; Watkins et al., 1995).

Prostaglandiny mohou ovlivnit periferní senzibilizace například zvýšením koncentrace cyklického AMP (cAMP), které sníží aktivační práh pro sodíkové kanály pomocí protein kinázy A (England et al., 1996). PGE2 může vyvolávat bolest ale i prostřednictvím dalších kanálů, ať už se jedná o ASIC nebo TRPV1 (Rukwied et al., 2007). Pomocí prostaglandinů je snížen práh na mechanické podněty (Ballou et al., 2000; Vardeh et al., 2009).

6.3. Histamin

Substance P, která je uvolněná z nociceptorů při stimulaci způsobuje uvolňování histaminu z žírných buněk. Histamin se poté váže na H-receptory, které jsou spřaženy s G-proteinem a spouští tak signální kaskádu (Fewtrell et al., 1982). Histamin je známý převážně pro svoji úlohu při alergické reakci, kdy rozšiřuje cévy a zvyšuje jejich propustnost. Právě tímto způsobem vzniká otok. Více než pro bolestivé podněty je histamin spojován se svěděním (Simone et al., 1991), avšak i v bolesti má svoji úlohu. Při vysoké koncentraci histaminu se zesílí odpověď nociceptorů na bradykinin a teplo. Slaběji na histamin reagují mechanicky citlivé nociceptory v kůži, nicméně subpopulace mechanicky citlivých C vláken je histaminem silně ovlivněna (Schmelz et al., 1997).

6.4. Serotonin

Serotonin (5-hydroxytryptamin, 5-HT) je další z mnoha mediátorů, které ovlivňují bolest. Je uvolňován z žírných buněk a krevních destiček při zranění nebo zánětu. Serotonin může aktivovat a senzibilizovat přímo nociceptory působením na receptory spojené s G-proteinem. Tyto receptory jsou obvykle spojené s fosfolipázou C nebo adenylát cyklázou, kde ovlivňují jejich aktivitu (Abbott et al., 1996). Většinou dochází ke snížení aktivačního prahu u TTX-R sodíkových kanálů nebo kanálů citlivých na kapsaicin a následné termální nebo mechanické hyperalgezie. Dalším mechanismem, jak serotonin ovlivňuje zánětlivou bolest je zvyšování reakce nociceptorů na bradykinin (Cardenas et al., 2001; Tokunaga et al., 1998).

6.5. Cytokiny

Cytokiny jsou malé proteiny, které hrají velkou roli v iniciaci a udržování zánětu. Jsou produkovány celou škálou buněk, převážně imunitních, jako jsou makrofágy, B a T lymfocyty nebo žírné buňky, stejně tak ale i buňkami endoteliálními či fibroblasty. Jeden cytokin může být produkován více buněčnými typy.

Cytokiny posilují nebo naopak tlumí účinky imunitních a zánětlivých buněk. Mimo to mají vliv na senzorické neurony. IL-1 β , IL-6 nebo TNF- α přímo souvisí se snížením aktivačního prahu TRPV1 nebo sodných kanálů Na_v1.7, Na_v1.8 a Na_v1.9 (Jin and Gereau, 2006; Oprée and Kress, 2000). Avšak cytokiny mohou působit i nepřímě. Stimulují uvolňování jiných látek jako například prostaglandinů (Samad et al., 2001).

Každý cytokin má svůj odpovídající buněčný povrchový receptor. Následné kaskády intracelulární signalizace pak mění funkci buňky. V průběhu akutní fáze zánětu cytokiny vyvolávají změnu senzibilizace pomocí kináz a fosforylací, zatímco při chronickém zánětu ovlivňují expresi několika genů a jejich transkripčních faktorů. Dochází k tomu především přes transkripční nukleární faktor kappa B (NF- κ B), který je regulován pomocí buněčných povrchových receptorů pro TNF- α a IL-1 (Tian et al., 2005). To může vést k tvorbě dalších cytokinů nebo ke změně počtu povrchových receptorů (Oprée and Kress, 2000).

Některé cytokiny jsou indukovány oxidačním stresem. Jedná se zejména o cytokiny IL-1, IL-6 a interferon (IFN) α . Jejich produkce vede k dalšímu zvýšení oxidativního stresu, který je důležitý pro chronický zánět, stejně jako pro jiné imunitní reakce. Tento mechanismus ovlivňuje například horečku nebo proteiny akutní fáze vznikající v játrech (Kim et al., 1997; Zachwieja et al., 2005).

V posledních letech se výzkum zaměřuje nejen na pochopení, ale i na deaktivaci zánětlivé bolesti. Látka kvercetin inhibuje oxidativní stres a s ním spojenou produkci cytokinů. To má za následek snížení bolesti (Valério et al., 2009). Novější látkou spojovanou se snížením bolesti se jeví naringenin z citrusových plodů. Prokazatelně snižuje tvorbu cytokinů, oxidativní stres a hyperalgezii v postižené tkáni (Pinho-Ribeiro et al., 2016).

6.5.1. Interleukin 1

IL-1 je významný zánět podporující cytokin a proto se mu věnuje tato podkapitola, nicméně zmínky o něm jsou uvedeny v celé práci. Rodina IL-1 obsahuje asi 11 cytokinů, které hrají ústřední úlohu při regulaci imunitní a zánětlivé odpovědi (Cohen et al., 2010). IL-1 je produkován širokým spektrem buněk, mezi které patří makrofágy, monocyty, fibroblasty, dendritické buňky, B lymfocyty i NK buňky. Tento cytokin zvyšuje expresi adhezních faktorů na buňkách endotelu a zvyšuje migraci imunokompetentních buněk do místa infekce. Ovlivňuje také činnost hypotalamu, který poté zvyšuje tělesnou teplotu. Proto se IL-1 nazývá endogenní pyrogen (Samad et al., 2001). Kromě horečky také způsobuje vasodilataci a hyperalgezii a bolest (Binshtok et al., 2008).

6.5.2. Interleukin 6

IL-6 je sekretován širokým spektrem buněk. Z buněk imunitních jsou to převážně makrofágy a T-lymfocyty. Jeho role je prozánětlivá, způsobuje horečku a reakci akutní fáze. Při bolesti je uplatňuje snížením aktivačního prahu TRPV nebo napětově řízených sodných

kanálů. Způsobuje hyperalgezií na mechanické a tepelné podněty (Oprée and Kress, 2000; Xu et al., 1997). Byla také potvrzena jeho zvýšená exprese při poranění, stejně jako při akutním zánětu. Toto zvýšení vykazuje korelaci s genovou expresí CCL2, CXCL1 a CXCL2 a přispívá ke zvýšení akutní zánětlivé bolesti (Wang et al., 2009).

6.5.3. Faktor nádorové nekrózy

TNF se podílí na systémovém zánětu a je jedním z nejvýznamnějších cytokinů. Produkují ho převážně aktivované makrofágy, ale může být produkován i jinými buňkami. TNF se uvolňuje v reakci na lipopolysacharidy, bakteriální produkty a IL-1. Hlavní úloha TNF je v regulaci imunitních buněk, je také schopen indukovat horečku, apoptickou buněčnou smrt a zánět (Chen et al., 2013; Walsh et al., 1991). Má řadu účinků, ale obecně se na aktivitě podílí společně s IL-1 a IL-6. TNF- α , IL-1 i IL-6 obecně stimulují mechanickou a tepelnou hyperalgezií (Sorkin et al., 1997; Woolf et al., 1997; Xu et al., 1997).

6.6. Neurotrofní faktory

Neurotrofní růstové faktory včetně nervového růstového faktoru (NGF, z angl. nerve growth factor) významně přispívají k citlivosti neuronů během zánětu. NGF je neuropeptid, který se podílí na regulaci, růstu a přežití neuronů. V jeho nepřítomnosti neurony podstupují apoptózu (Lee et al., 2001). NGF se vyskytuje i v mnoha dalších typech buněk, jako jsou fibroblasty, Schwannovy buňky a v řadě buněk imunitního systému. Zánětlivé mediátory IL-1 a TNF- α zvyšují produkci NGF (Woolf et al., 1997).

NGF vytváří hyperalgezií, která je zprostředkována částečně přímo nociceptory, částečně přes mediátory uvolňované ze zánětlivých buněk aktivovaných NGF (Kerr et al., 2001). Přímé zprostředkování bolesti je založeno na uvolňování NGF ve velké koncentraci z žírných buněk. NGF poté stimuluje axony blízkých nociceptorů. To vede ke zvýšenému vnímání bolesti v oblasti se zánětem (Gould et al., 2000; Kasai and Mizumura, 2001; Theodosiou et al., 1999). V akutní fázi zánětu NGF využívá s vysokou afinitou tropomyozin receptorovou kinázu A (TrkA), kde dochází k fosforylaci tyrozinu, včetně iontových kanálů, která vede k jejich aktivaci. V delším čase NGF působí na regulaci genové exprese u genů pro neuropeptidy, substanci P, ale i receptory TRPV nebo bradykininový receptor B2 (Michael et al., 1997).

Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) je rovněž neurotrofní faktor. Má silný účinek na míšní nervy a je tak spojován s centrální přecitlivělostí spojené se zánětem.

Produkce BDNF se zvyšuje koncentrací NGF a zánětem (Cho et al., 1997; Mannion et al., 1999; Michael et al., 1997).

7. Imunitní buňky a bolest

Imunitní systém ovlivňuje senzorické zpracování vjemu a hraje klíčovou roli ve vývoji a udržování pocitu bolesti. Stejně působí i faktory, které produkuje. Několikrát zmiňované cytokiny a chemokiny jsou nejen důležitým prostředkem komunikace mezi imunitními buňkami, ale působí také jako mediátory bolesti s přímým senzibilizačním účinkem na nociceptory. Imunitní systém není omezen pouze na zánětlivou bolest. Roli má i v bolesti neuropatické, neboť poškození nervů vyvolává bouřlivou imunitní reakci. Imunitní buňky ovšem v klidovém stavu s nociceptory nespolupracují. Ke spolupráci dochází až po poškození tkáně, infekci nebo po jiné aktivaci imunitních buněk, kdy dojde k fenotypové změně, která vede k uvolňování cytokinů a chemokinů. V následující kapitole jsou uvedeny imunitní buňky, které hrají roli v ovlivňování nociceptorů a způsobují bolest (Obrázek 5).

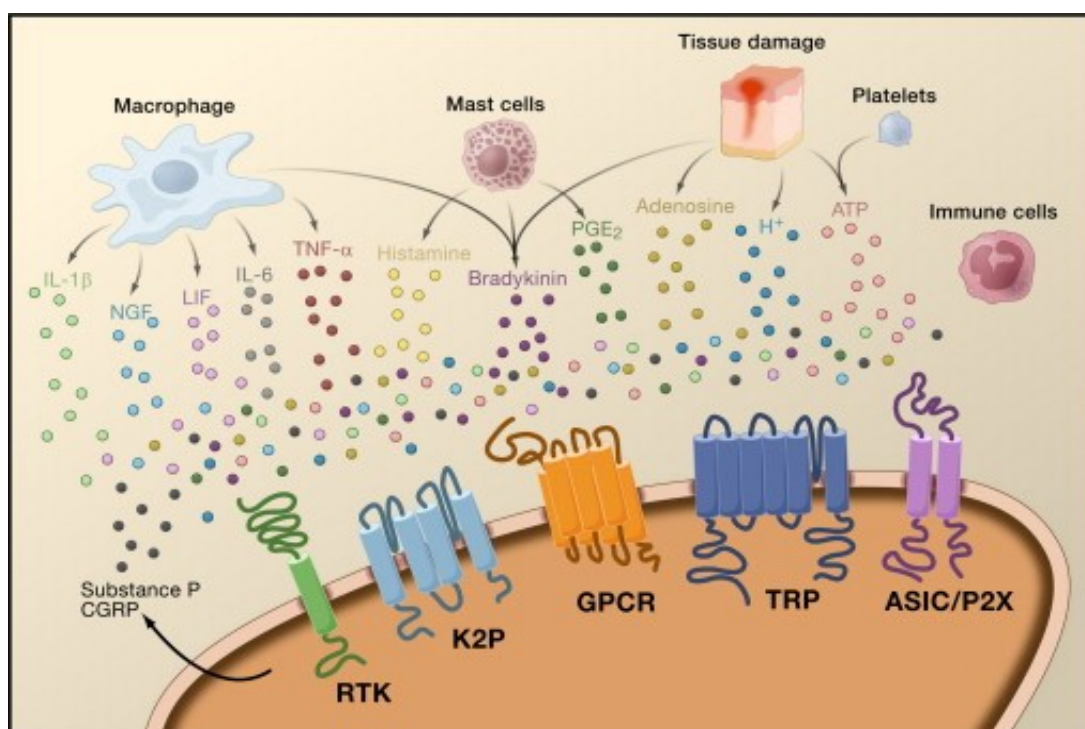
Poslední studie se například zabývají tím, jaké typy imunitních buněk reagují na zánět vyvolaný různými způsoby a jak tyto buňky ovlivňují bolest (Ghasemlou et al., 2015). Jiné práce studují vliv opioidů na imunitní systém. Bylo prokázáno, že imunitní buňky produkují endogenní opioidní peptidy, které se vážou na periferní opioidní receptory a zánětlivou bolest zmírňují (Pannell et al., 2016; Sauer et al., 2014).

7.1. Žírné buňky

Žírné buňky (též mastocyty) se vyskytují v různých tkáních, nejčastěji v kůži a v trávicí soustavě - tj. v místech interakce s vnějším prostředím. Žírné buňky ovšem nalezneme i v mozku, kde interagují s neuroimunitním systémem. Granule žírných buněk obsahují chemikálie, včetně histaminu, heparinu, cytokinů a chemokinů. Při uvolnění granulí dojde k uvolnění těchto látek. Heparin brání srážení krve, histamin hraje významnou roli při alergické reakci, svědění a bolesti (Zuo et al., 2003). Žírné buňky mohou bolest ovlivňovat i jinými látkami, například produkcí NGF. Role histaminu a NGF při zánětlivé bolesti již byla diskutována. Předpokládá se, že tepelná hyperalgie indukovaná NGF je zprostředkována právě působením žírných buněk. Přestože chemické látky uvolňované žírnými buňkami mohou působit přímo na senzibilizaci nociceptorů, mohou také působit přes cytokiny a chemokiny v aktivaci jiných imunitních buněk (Gould et al., 2000; Leon et al., 1994; Theodosiou et al., 1999). V gastrointestinálním traktu (GIT) jsou žírné buňky umístěné

v blízkosti nervových vláken. Pokud dojde k degranulaci žírných buněk, následuje senzibilizace a ovlivnění exprese membránových kanálů na nociceptorech (TRPV1 a histaminové H-receptory) (Drummond, 2004). I v mozku mají žírné buňky obdobnou funkci, a to ovlivňovat alergickou reakci, autoimunitu a zánět (Polyzoidis et al., 2015).

Avšak nejnovější studie prokazují, že žírné buňky nemají na periferní senzibilizaci žádný vliv. Taktéž role NGF byla zpochybněna (Lopes et al., 2017).



Obrázek 5, Produkce zánětlivých mediátorů s kanály na nociceptoru

Imunitní buňky při poranění tkáně produkují zánětlivé mediátory. Tato zánětlivá směs látek obsahuje cytokiny (IL-1, IL-6, TNF- α), histamin, bradykinin, PGE₂, Adenosin a ATP nebo protony H⁺. Tyto faktory ovlivňují přímo receptory navázané na buněčném povrchu nociceptorů, jako jsou ISIC kanály, purinergní receptory, TRP kanály, dvoupórové draslíkové kanály (K2P), různé receptory kináz (např. receptor tyrozin kinázy RTK) nebo receptory spojené s G-proteinem (GPCR). (Basbaum et al., 2009)

7.2. Neutrofilý

Neutrofilý jsou nejrozšířenějším typem granulocytů u savců. Jsou to fagocytující buňky vyskytují se obvykle v krevním řečišti. Během akutní fáze zánětu a bakteriální infekce jsou neutrofilý první buňky, které zahajují zánětlivou reakci produkcí prozánětlivých cytokinů. Mimo fagocytózy, kdy pohlcují mikroorganismy, jsou schopné i degranulace. Obsah těchto granulí má antimikrobiální účinky a pomáhá snižovat infekci.

Do místa poranění či infekce migrují neutrofilý pomocí chemotaxe. Ta je zajištěna pomocí buněčných povrchových receptorů, které umožňují neutrofilům detekovat gradient chemických molekul typických pro místo infekce, jako jsou IL-8, IFN- γ nebo složky komplementu (C3a, C5a). Je nutné zdůraznit, že samotná přítomnost neutrofilů nemusí vyvolat bolestivé podněty. K nim je zapotřebí až aktivace těchto buněk. Neutrofilý jsou vybaveny C-X-C chemokinovými receptory 1 a 2 (CXCR1 a CXCR2), které mají úlohu při aktivaci v zánětlivých stavech, stejně jako roli při jejich migraci (Bizzarri et al., 2006). K aktivaci může dojít například navázáním chemokinu CXC, který je ligandem pro CXCR1 a CXCR2 receptory. Po aktivaci jsou uvolňovány faktory, které mohou působit přímo na nociceptory a snižovat jejich aktivační hodnotu (Cunha et al., 2008).

Při poranění nervu, kdy dochází k neuropatické bolesti, je v místě zranění podstatně zvýšená infiltrace neutrofilů. Tato infiltrace má za následek hyperalgezii. Spíše než na udržování bolesti mají neutrofilý roli při jejím zahájení. Uvolňované chemokiny mají účinek na nociceptory, stejně jako je tomu u žírných buněk. Chemokiny mají za následek aktivaci jiných imunitních buněk, například makrofágů (Kim and Moalem-Taylor, 2011a, 2011b). Obdobné účinky jako neutrofilý mají i jiné granulocyty, a to eosinofily a bazofily. Oba tyto typy granulocytů modulují bolest, uvolňují algesické faktory a zároveň hrají roli při alergiích (Alessandri et al., 2011).

7.3. Makrofágy

Makrofágy jsou podtyp bílých krvinek, jejichž hlavní úlohou je především fagocytóza cizích objektů, buněčných úlomků a mikrobů. Makrofágy diferencují z monocytů, které jsou vyplavovány z kostní dřeně do krevního oběhu. Tam kolují do doby, než vstoupí do tkáně (cca 8 hodin), kde diferencují na tkáňové makrofágy. Těch je mnoho typů v závislosti na konkrétní typu tkáně. Příkladem jsou mikroglie v CNS, alveolární buňky v plicích, osteoklasty v kostech nebo Kupfferovy buňky v játrech. Po poškození tkáně nebo infekci je

populace makrofágů v tkáni doplněna monocyty z krve. Makrofágy reagují na signály uvolňované nekrotickými buňkami nebo na signály produkované invazivními mikroorganismy. Důležitou molekulou chemotaxe makrofágů je ligand CC (CCL) 3, který napomáhá infiltraci makrofágů do tkáně a souvisí s tepelnou a mechanickou sensitivitou (Llorián-Salvador et al., 2015). Také TLR receptory mají roli při aktivaci makrofágů a následné aktivaci bolestivých podnětů (Krutzik et al., 2005).

Makrofágy mají velkou úlohu ve vývoji zánětlivé i neuropatické bolesti. To je způsobeno produkcí zánětlivých mediátorů, které vznikají aktivací purinergního receptoru P2X. Ten vyvolává produkci PGE2 a následnou mechanickou hyperalgezií. Makrofágy také fungují jako antigen prezentující buňky pro T-lymfocyty, které se do místa zánětu dostávají později (Ribeiro et al., 2000; Ulmann et al., 2010). Kromě prozánětlivé role ovšem mohou mít makrofágy i roli protizánětlivou. Zatímco makrofágy označující se M1 zánět svými cytokiny podporují, makrofágy M2 zánět snižují a podporují tak regeneraci tkáně. Jejich migrace je závislá na chemokinech (Vogel et al., 2014).

7.4. T-buňky

T-lymfocyty se dají rozdělit na ty, které nesou na svém povrchu koreceptor pro hlavní histokompatibilní komplex (MHC) glykoprotein první třídy - molekulu CD8, a ty, které nesou na povrchu koreceptor pro MHC glykoprotein druhé třídy - molekulu CD4. Buňky CD8 pozitivní jsou prekurzory pro cytotoxické T buňky (Tc). Buňky CD4 pozitivní jsou prekurzory pomocných T buněk (Th). Th buňky se liší produkcí cytokinů a jejich funkcí. Některé typy přispívají v boji proti infekci a jejich funkce je prozánětlivá, jiné mají funkci protizánětlivou.

Při zánětlivých bolestivých stavech se počet T-buněk ve tkáni zvyšuje. Toto zvýšení je spojeno také s tepelnou a mechanickou hypersenzitivitou. K bolesti dochází v důsledku produkce cytokinů a aktivace jiných imunologických buněk, jako jsou již zmiňované makrofágy, neutrofily nebo žírné buňky (Cui et al., 2000; Moalem et al., 2004).

8. Produkce imunitních mediátorů neimunitními buňkami

Neimunitní buňky mohou také hrát důležitou roli při zahájení procesu vedoucímu k bolesti. Příkladem jsou keratinocyty, které se nacházejí v epidermis. V jejich okolí se nacházejí volná zakončení nociceptorů, neboť se jedná o místo častého poranění. Právě po poranění nebo onemocnění keratinocyty uvolňují řadu cytokinů, chemokinů a růstových

faktorů, které mají senzibilizační účinky na nociceptory. Těmito látkami jsou například IL-1 nebo NGF. Keratinocyty tak modulují přímo nociceptory. Mohou ale také atrahovat a aktivovat buňky imunitního systému (Khodorova et al., 2003; Shi et al., 2011).

Dalším příkladem jsou Schwannovy buňky, které jsou úzce spojeny s nervy, neboť vytváří jejich myelinový plášť kolem axonů. I tyto buňky při porušení nebo infekci vytváří řadu cytokinů jako TNF a IL-6, nebo chemokinů CCL. Tyto faktory přímo působí na neporušené axony v blízkosti poškození a hrají úlohu při náboru imunitních buněk, čímž přispívají k vývoji neuropatické a zánětlivé bolesti (Bolin et al., 1995; Kiguchi et al., 2010; Sorkin et al., 1997; Wagner and Meyers, 1996).

9. Inhibice periferní senzibilizace

Zánět i bolest je pro organismus přirozená reakce, avšak vnímáme ji negativně (Karshikoff et al., 2016). Proto se člověk snaží bolestivé projevy utlumit. Využívá se přitom různých látek, jejich krátký přehled uvádí tato kapitola.

9.1. Nesteroidní protizánětlivé léky

Nesteroidní protizánětlivé léky (NSAID) sdružují spoustu látek, které poskytují analgetické a antipyretické účinky. Takovými nejběžnějšími používanými látkami jsou kyselina acetylsalicylová, ibuprofen nebo metamizol. Paracetamol se mezi tyto látky neřadí, protože postrádá protizánětlivý efekt. NSAID inhibují COX-1 a COX-2 a tím snižují tvorbu tromboxanů a prostaglandinů. Převážně inhibice COX-2 vede ke snížení bolesti a zánětu, zároveň snižuje horečku, protože nedochází k tvorbě PGE2 (Hamza and Dionne, 2009). NSAID ale mají nežádoucí účinky, plynoucí z jejich nadměrného užívání. Jedná s především o problémy s GIT, jako jsou vředy nebo vnitřní krvácení (Payne, 2000). Proto je snaha využívat účinnější specifické inhibitory COX-2 (koxiby) nebo selektivní blokátory pro receptory, na které se prostaglandiny vážou přímo na nociceptorech. Další alternativou jsou NSAID obohacené o nitro-deriváty. Takou látkou je například nitro-aspirin, který prokazuje antinocicepční a protizánětlivé účinky, ale bez poškození GIT (al-Swayeh et al., 2000).

9.2. Opioidy

Opioidy (dříve opiáty) přinášejí okamžitou úlevu od bolesti. Využívají se především při těžké akutní bolesti nebo v případech, kdy jsou NSAID nedostatečné. Jejich blokace

nociceptorů a bolestivého podnětu je významná i při zánětlivých stavech. Opiáty také ovlivňují produkci zánětlivých molekul. Nejznámější opiáty jsou kodein nebo morfium. Dnes se ale užívají především syntetické opiáty například tramadol. Hlavním nežádoucím účinkem těchto látek je rychlá tvorba závislosti. Naopak velká výhoda je, že nezpůsobují žádnou orgánovou toxicitu (Clark et al., 2007; Stein and Lang, 2009). V poslední době je snaha o propojení NSAID látek spolu s opioidy za vzniku nových léčiv, která by neměla vedlejší účinky.

10. Závěr

Studování nervového systému a jeho regulací je důležité pro pochopení jeho funkce. To samé platí pro systém imunitní, u kterého je studium ještě složitější úkol, protože obsahuje rozličné typy buněk s různorodou funkcí. Nejsložitější se potom jeví studium neuroimunitního systému, tedy kooperace nervové a imunitní soustavy, která zprostředkovává zánět. Zánět je spojen s bolestí, která zprostředkovává informaci a upozorňuje na problém, který je důvodem k vytvoření zánětu.

Interakce mezi nervovým a imunitním systémem hraje zásadní roli v tvorbě a ovlivňování bolesti. Bolest vzniká kooperací řady buněčných typů a jimi produkováných faktorů. Neurony i buňky imunitního systému mohou detekovat nebezpečné podněty a podílejí se na zánětlivé odpovědi. Nejdůležitějším mechanismem při zánětu je uvolňování zánětlivých mediátorů imunitními buňkami. IL-1 β , TNF- α a IL-6 senzibilizují nociceptory a zesilují citlivost na bolest. Indukují také změny ve fyziologickém chování spojeném s bolestí. Nociceptory naopak ovlivňují funkci buněk imunitního systému.

Studium regulace nociceptorů, může proto vést k lepšímu porozumění a pochopení celého systému. To je důležité pro vytvoření látek, které budou schopny bolest inhibovat bez nežádoucích účinků. K naprostému utlumení nociceptorů dojít nemůže, protože jejich funkce je významná při detekci dalších vnějších stimulů. Stejně tak úplná inhibice imunitních buněk nepřipadá v úvahu, neboť jejich funkce v organismu je komplexní. I úplné znemožnění vytvoření zánětu ve tkáni není možné, protože by vedlo k většímu rozvoji nežádoucí infekci.

Význam samotného nervového a imunitního systému je velmi podstatný, ale jejich propojení přináší nesmírné výhody v rychlosti, účinnosti a efektivitě fyziologické odpovědi.

Seznam použité literatury

- Abbott, F. V., Hong, Y., and Blier, P. (1996). Activation of 5-HT_{2A} receptors potentiates pain produced by inflammatory mediators. *Neuropharmacology* 35, 99–110.
- Akopian, A.N., Souslova, V., England, S., Okuse, K., Ogata, N., Ure, J., Smith, A., Kerr, B.J., McMahon, S.B., Boyce, S., et al. (1999). The tetrodotoxin-resistant sodium channel SNS has a specialized function in pain pathways. *Nat. Neurosci.* 2, 541–548.
- al-Swayeh, O. a, Clifford, R.H., del Soldato, P., and Moore, P.K. (2000). A comparison of the anti-inflammatory and anti-nociceptive activity of nitroaspirin and aspirin. *Br. J. Pharmacol.* 129, 343–350.
- Alessandri, A.L., Duffin, R., Leitch, A.E., Lucas, C.D., Sheldrake, T.A., Dorward, D.A., Hirani, N., Pinho, V., de Sousa, L.P., Teixeira, M.M., et al. (2011). Induction of eosinophil apoptosis by the cyclin-dependent kinase inhibitor AT7519 promotes the resolution of eosinophil-dominant allergic inflammation. *PLoS One* 6.
- Amaya, F., Wang, H., Costigan, M., Allchorne, A.J., Hatcher, J.P., Egerton, J., Stean, T., Morisset, V., Grose, D., Gunthorpe, M.J., et al. (2006). The voltage-gated sodium channel Na(v)1.9 is an effector of peripheral inflammatory pain hypersensitivity. *J Neurosci* 26, 12852–12860.
- Apkarian, A.V., Bushnell, M.C., Treede, R.D., and Zubieta, J.K. (2005). Human brain mechanisms of pain perception and regulation in health and disease. *Eur. J. Pain* 9, 463–484.
- Ballou, L.R., Botting, R.M., Goorha, S., Zhang, J., and Vane, J.R. (2000). Nociception in cyclooxygenase isozyme-deficient mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 97, 10272–10276.
- Basbaum, A.I., Bautista, D.M., Scherrer, G., and Julius, D. (2009). Cellular and Molecular Mechanisms of Pain. *Cell* 139, 267–284. **
- Bautista, D.M., Jordt, S.E., Nikai, T., Tsuruda, P.R., Read, A.J., Poblete, J., Yamoah, E.N., Basbaum, A.I., and Julius, D. (2006). TRPA1 Mediates the Inflammatory Actions of Environmental Irritants and Proalgesic Agents. *Cell* 124, 1269–1282.
- Bertin, S., Aoki-Nonaka, Y., de Jong, P.R., Nohara, L.L., Xu, H., Stanwood, S.R., Srikanth, S., Lee, J., To, K., Abramson, L., et al. (2014). The ion channel TRPV1 regulates the activation and proinflammatory properties of CD4⁺ T cells. *Nat. Immunol.* 15, 1055–1063.
- Binshtok, A., Wang, H., and Zimmermann, K. (2008). Nociceptors Are Interleukin-1 β Sensors. *J. Neurosci.* 28, 14062–14073.
- Bizzarri, C., Beccari, A.R., Bertini, R., Cavicchia, M.R., Giorgini, S., and Allegretti, M. (2006). ELR⁺ CXC chemokines and their receptors (CXC chemokine receptor 1 and CXC chemokine receptor 2) as new therapeutic targets. *Pharmacol. Ther.* 112, 139–149. *
- Bolin, L.M., Verity, a N., Silver, J.E., Shooter, E.M., and Abrams, J.S. (1995). Interleukin-6 production by Schwann cells and induction in sciatic nerve injury. *J. Neurochem.* 64, 850–858.
- Bourinet, E., Alloui, A., Monteil, A., Barrère, C., Couette, B., Poirot, O., Pages, A., McRory, J., Snutch, T.P., Eschalier, A., et al. (2005). Silencing of the Cav3.2 T-type calcium channel gene in sensory neurons demonstrates its major role in nociception. *EMBO J.* 24, 315–324.
- Burnstock, G. (1996). A unifying purinergic hypothesis for the initiation of pain. *Lancet* 347, 1604–1605.

- Burnstock, G., and Wood, J.N. (1996). Purinergic receptors: Their role in nociception and primary afferent neurotransmission. *Curr. Opin. Neurobiol.* 6, 526–532. *
- Cardenas, L.M., Cardenas, C.G., and Scroggs, R.S. (2001). 5HT increases excitability of nociceptor-like rat dorsal root ganglion neurons via cAMP-coupled TTX-resistant Na(+) channels. *J. Neurophysiol.* 86, 241–248.
- Caterina, M.J. (2000). Impaired Nociception and Pain Sensation in Mice Lacking the Capsaicin Receptor. *Science* (80-.). 288, 306–313.
- Caterina, M.J., Schumacher, M. a, Tominaga, M., Rosen, T. a, Levine, J.D., and Julius, D. (1997). The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature* 389, 816–824.
- Clark, J.D., Shi, X., Li, X., Qiao, Y., Liang, D., Angst, M.S., and Yeomans, D.C. (2007). Morphine reduces local cytokine expression and neutrophil infiltration after incision. *Mol. Pain* 3, 28.
- Cohen, I., Rider, P., Carmi, Y., Braiman, A., Dotan, S., White, M.R., Voronov, E., Martin, M.U., Dinarello, C. a, and Apte, R.N. (2010). Differential release of chromatin-bound IL-1alpha discriminates between necrotic and apoptotic cell death by the ability to induce sterile inflammation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107, 2574–2579.
- Cook, A.D., Pobjoy, J., Steidl, S., Dürr, M., Braine, E.L., Turner, A.L., Lacey, D.C., and Hamilton, J. a (2012). Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor is a key mediator in experimental osteoarthritis pain and disease development. *Arthritis Res. Ther.* 14, R199.
- Cook, S.P., Vulchanova, L., Hargreaves, K.M., Elde, R., and McCleskey, E.W. (1997). Distinct ATP receptors on pain-sensing and stretch-sensing neurons. *Nature* 387, 505–508.
- Cuesta, M.C., Quintero, L., Pons, H., and Suarez-Roca, H. (2002). Substance P and calcitonin gene-related peptide increase IL-1 β , IL-6 and TNF α secretion from human peripheral blood mononuclear cells. *Neurochem. Int.* 40, 301–306.
- Cui, J.G., Holmin, S., Mathiesen, T., Meyerson, B.A., and Linderöth, B. (2000). Possible role of inflammatory mediators in tactile hypersensitivity in rat models of mononeuropathy. *Pain* 88, 239–248.
- Cunha, T.M., Barsante, M.M., Guerrero, a T., Verri, W. a, Ferreira, S.H., Coelho, F.M., Bertini, R., Di Giacinto, C., Allegretti, M., Cunha, F.Q., et al. (2008). Treatment with DF 2162, a non-competitive allosteric inhibitor of CXCR1/2, diminishes neutrophil influx and inflammatory hypernociception in mice. *Br. J. Pharmacol.* 154, 460–470.
- Davatelis, G., Wolpe, S.D., Sherry, B., Dayer, J.M., Chicheportiche, R., and Cerami, A. (1989). Macrophage Inflammatory Protein .1. a Prostaglandin-Independent Endogenous Pyrogen. *Science* (80-.). 243, 1066–1068.
- Davis, J.B., Gray, J., Gunthorpe, M.J., Hatcher, J.P., Davey, P.T., Overend, P., Harries, M.H., Latcham, J., Clapham, C., Atkinson, K., et al. (2000). Vanilloid receptor-1 is essential for inflammatory thermal hyperalgesia. *Nature* 405, 183–187.
- Dinarello, C.A., Renfer, L., and Wolff, S.M. (1977). Human leukocytic pyrogen: purification and development of a radioimmunoassay. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 74, 4624–4627.
- Drummond, P.D. (2004). The effect of cutaneous mast cell degranulation on sensitivity to heat. *Inflamm. Res.* 53, 309–315.
- Duchene, J., Lecomte, F., Ahmed, S., Cayla, C., Pesquero, J., Bader, M., Perretti, M., and Ahluwalia, A. (2007). A novel inflammatory pathway involved in leukocyte recruitment:

- role for the kinin B1 receptor and the chemokine CXCL5. *J. Immunol.* *179*, 4849–4856.
- England, S., Bevan, S., and Docherty, R.J. (1996). PGE2 modulates the tetrodotoxin-resistant sodium current in neonatal rat dorsal root ganglion neurones via the cyclic AMP-protein kinase A cascade. *J. Physiol.* *495*, 429–440.
- Estacion, M., Dib-Hajj, S.D., Benke, P.J., Te Morsche, R.H.M., Eastman, E.M., Macala, L.J., Drenth, J.P.H., and Waxman, S.G. (2008). NaV1.7 gain-of-function mutations as a continuum: A1632E displays physiological changes associated with erythromelalgia and paroxysmal extreme pain disorder mutations and produces symptoms of both disorders. *J. Neurosci.* *28*, 11079–11088.
- Ezekowitz, R.A., Sim, R.B., Hill, M., and Gordon, S. (1984). Local opsonization by secreted macrophage complement components. Role of receptors for complement in uptake of zymosan. *J. Exp. Med.* *159*, 244–260.
- Fattori, E., Cappelletti, M., Costa, P., Sellitto, C., Cantoni, L., Carelli, M., Faggioni, R., Fantuzzi, G., Ghezzi, P., and Poli, V. (1994). Defective inflammatory response in interleukin 6-deficient mice. *J. Exp. Med.* *180*, 1243–1250.
- Feng, D., Nagy, J.A., Pyne, K., Dvorak, H.F., and Dvorak, A.M. (1998). Neutrophils emigrate from venules by a transendothelial cell pathway in response to FMLP. *J. Exp. Med.* *187*, 903–915.
- Ferreira, J., da Silva, G.L., and Calixto, J.B. (2004). Contribution of vanilloid receptors to the overt nociception induced by B2 kinin receptor activation in mice. *Br. J. Pharmacol.* *141*, 787–794.
- Fewtrell, C.M., Foreman, J.C., Jordan, C.C., Oehme, P., Renner, H., and Stewart, J.M. (1982). The effects of substance P on histamine and 5-hydroxytryptamine release in the rat. *J. Physiol.* *330*, 393–411.
- Fox, A., Wotherspoon, G., McNair, K., Hudson, L., Patel, S., Gentry, C., and Winter, J. (2003). Regulation and function of spinal and peripheral neuronal B1 bradykinin receptors in inflammatory mechanical hyperalgesia. *Pain* *104*, 683–691.
- Garavito, R.M., and Dewitt, D.L. (1999). The cyclooxygenase isoforms: Structural insights into the conversion of arachidonic acid to prostaglandins. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Biol. Lipids* *1441*, 278–287. *
- Ghasemlou, N., Chiu, I.M., Julien, J.-P., and Woolf, C.J. (2015). CD11b+Ly6G- myeloid cells mediate mechanical inflammatory pain hypersensitivity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *112*, E6808-17.
- Gold, M.S., Reichling, D.B., Shuster, M.J., and Levine, J.D. (1996). Hyperalgesic agents increase a tetrodotoxin-resistant Na⁺ current in nociceptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *93*, 1108–1112.
- Gordon, S. (2002). Pattern recognition receptors: Doubling up for the innate immune response. *Cell* *111*, 927–930. *
- Goswami, S.C., Mishra, S.K., Maric, D., Kaszas, K., Gonnella, G.L., Clokie, S.J., Kominsky, H.D., Gross, J.R., Keller, J.M., Mannes, A.J., et al. (2014). Molecular signatures of mouse TRPV1-lineage neurons revealed by RNA-seq transcriptome analysis. *J. Pain* *15*, 1338–1359.
- Gould, H.J., Gould, T.N., England, J.D., Paul, D., Liu, Z.P., and Levinson, S.R. (2000). A possible role for nerve growth factor in the augmentation of sodium channels in models of chronic pain. *Brain Res.* *854*, 19–29.

- Grouard, G., Durand, I., Filgueira, L., Banchereau, J., and Liu, Y.-J. (1996). Dendritic cells capable of stimulating T cells in germinal centres. *Nature* 384, 364–367.
- Haddad, E.B., Fox, A.J., Rousell, J., Burgess, G., McIntyre, P., Barnes, P.J., and Chung, K.F. (2000). Post-transcriptional regulation of bradykinin B1 and B2 receptor gene expression in human lung fibroblasts by tumor necrosis factor- α : modulation by dexamethasone. *Mol. Pharmacol.* 57, 1123–1131.
- Hamza, M., and Dionne, R.A. (2009). Mechanisms of non-opioid analgesics beyond cyclooxygenase enzyme inhibition. *Curr. Mol. Pharmacol.* 2, 1–14. *
- Hepburn, L., Prajsnar, T.K., Klapholz, C., Moreno, P., Loynes, C.A., Ogryzko, N. V, Brown, K., Schiebler, M., Hegyi, K., Antrobus, R., et al. (2014). Innate immunity. A Spatzle-like role for nerve growth factor beta in vertebrate immunity to *Staphylococcus aureus*. *Science* (80-). 346, 641–646.
- Chen, J., Song, Y., Yang, J., Zhang, Y., Zhao, P., Zhu, X.-J., and Su, H. (2013). The contribution of TNF- α in the amygdala to anxiety in mice with persistent inflammatory pain. *Neurosci. Lett.* 541, 275–280.
- Chiu, I.M., Heesters, B.A., Ghasemlou, N., Von Hehn, C.A., Zhao, F., Tran, J., Wainger, B., Strominger, A., Muralidharan, S., Horswill, A.R., et al. (2013). Bacteria activate sensory neurons that modulate pain and inflammation. *Nature* 501, 52–57.
- Cho, H.-J., Kim, J.-K., Zhou, X.-F., and Rush, R.A. (1997). Increased brain-derived neurotrophic factor immunoreactivity in rat dorsal root ganglia and spinal cord following peripheral inflammation. *Brain Res.* 764, 269–272.
- Ikeda, K., Sannoh, T., Kawasaki, N., Kawasaki, T., and Yamashina, I. (1987). Serum lectin with known structure activates complement through the classical pathway. *J. Biol. Chem.* 262, 7451–7454.
- Iwasaki, A., and Medzhitov, R. (2015). Control of adaptive immunity by the innate immune system. *Nat. Immunol.* 16, 343–353. *
- Jin, X., and Gereau, R.W. (2006). Acute p38-Mediated Modulation of Tetrodotoxin-Resistant Sodium Channels in Mouse Sensory Neurons by Tumor Necrosis Factor-. *J. Neurosci.* 26, 246–255.
- Karshikoff, B., Jensen, K.B., Kosek, E., Kalpouzos, G., Soop, A., Ingvar, M., Olgart Höglund, C., Lekander, M., and Axelsson, J. (2016). Why sickness hurts: A central mechanism for pain induced by peripheral inflammation. *Brain. Behav. Immun.* 57, 38–46.
- Kasai, M., and Mizumura, K. (2001). Increase in spontaneous action potentials and sensitivity in response to norepinephrine in dorsal root ganglion neurons of adjuvant inflamed rats. *Neurosci. Res.* 39, 109–113.
- Kerckhove, N., Mallet, C., François, A., Boudes, M., Chemin, J., Voets, T., Bourinet, E., Alloui, A., and Eschalier, A. (2014). Cav3.2 calcium channels: The key protagonist in the supraspinal effect of paracetamol. *Pain* 155, 764–772.
- Kerr, B.J., Souslova, V., McMahon, S.B., and Wood, J.N. (2001). A role for the TTX-resistant sodium channel Nav 1.8 in NGF-induced hyperalgesia, but not neuropathic pain. *Neuroreport* 12, 3077–3080.
- Khodorova, A., Navarro, B., Jouaville, L.S., Murphy, J.-E., Rice, F.L., Mazurkiewicz, J.E., Long-Woodward, D., Stoffel, M., Strichartz, G.R., Yukhananov, R., et al. (2003). Endothelin-B receptor activation triggers an endogenous analgesic cascade at sites of peripheral injury.

Nat. Med. 9, 1055–1061.

- Kiguchi, N., Maeda, T., Kobayashi, Y., Fukazawa, Y., and Kishioka, S. (2010). Macrophage inflammatory protein-1 α mediates the development of neuropathic pain following peripheral nerve injury through interleukin-1 β up-regulation. *Pain* 149, 305–315.
- Kim, C.F., and Moalem-Taylor, G. (2011a). Detailed characterization of neuro-immune responses following neuropathic injury in mice. *Brain Res.* 1405, 95–108.
- Kim, C.F., and Moalem-Taylor, G. (2011b). Interleukin-17 contributes to neuroinflammation and neuropathic pain following peripheral nerve injury in mice. *J Pain* 12, 370–383.
- Kim, M.J., Aiken, J.M., Havighurst, T., Hollander, J., Ripple, M.O., and Weindruch, R. (1997). Adult-onset energy restriction of rhesus monkeys attenuates oxidative stress-induced cytokine expression by peripheral blood mononuclear cells. *J. Nutr.* 127, 2293–2301.
- Krutzik, S.R., Tan, B., Li, H., Ochoa, M.T., Liu, P.T., Sharfstein, S.E., Graeber, T.G., Sieling, P. a, Liu, Y.-J., Rea, T.H., et al. (2005). TLR activation triggers the rapid differentiation of monocytes into macrophages and dendritic cells. *Nat. Med.* 11, 653–660.
- Kwan, K.Y., Allchorne, A.J., Vollrath, M.A., Christensen, A.P., Zhang, D.S., Woolf, C.J., and Corey, D.P. (2006). TRPA1 Contributes to Cold, Mechanical, and Chemical Nociception but Is Not Essential for Hair-Cell Transduction. *Neuron* 50, 277–289.
- LaMotte, R.H., Shain, C.N., Simone, D.A., and Tsai, E.F. (1991). Neurogenic hyperalgesia: psychophysical studies of underlying mechanisms. *J. Neurophysiol.* 66, 190–211.
- Lee, R., Kermani, P., Teng, K.K., and Hempstead, B.L. (2001). Regulation of cell survival by secreted proneurotrophins. *Science* 294, 1945–1948.
- Leon, A., Buriani, A., Dal Toso, R., Fabris, M., Romanello, S., Aloe, L., and Levi-Montalcini, R. (1994). Mast cells synthesize, store, and release nerve growth factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 91, 3739–3743.
- Levy, D., and Zochodne, D.W. (2000). Increased mRNA expression of the B1 and B2 bradykinin receptors and antinociceptive effects of their antagonists in an animal model of neuropathic pain. *Pain* 86, 265–271.
- Link, T.M., Park, U., Vonakis, B.M., Raben, D.M., Soloski, M.J., and Caterina, M.J. (2010). TRPV2 has a pivotal role in macrophage particle binding and phagocytosis. *Nat. Immunol.* 11, 232–239.
- Llorián-Salvador, M., González-Rodríguez, S., Lastra, A., Fernández-García, M.T., Hidalgo, A., Menéndez, L., and Baamonde, A. (2015). Involvement of CC Chemokine Receptor 1 and CCL3 in Acute and Chronic Inflammatory Pain in Mice. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* n/a-n/a.
- Lopes, D.M., Denk, F., Chisholm, K.I., Suddason, T., Durrieux, C., Thakur, M., Gentry, C., and McMahon, S.B. (2017). Peripheral inflammatory pain sensitisation is independent of mast cell activation in male mice. *Pain* 0, 1.
- Mannion, A.R.J., Costigan, M., Decosterd, I., Amaya, F., Ma, Q., Holstege, J.C., Ji, R., Acheson, A., Lindsay, R.M., Wilkinson, G.A., et al. (1999). Neurotrophins : Peripherally and Centrally Acting Modulators of Tactile Stimulus-Induced Inflammatory Pain Hypersensitivity Source : Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America , Published by : National Academy of Scien. *Proc. Natl. Acad. Sci. - PNAS* 96, 9385–9390.
- Mariathasan, S., Weiss, D.S., Newton, K., McBride, J., O'Rourke, K., Roose-Girma, M., Lee,

- W.P., Weinrauch, Y., Monack, D.M., and Dixit, V.M. (2006). Cryopyrin activates the inflammasome in response to toxins and ATP. *Nature* 440, 228–232.
- McAdam, B.F., Mardini, I.A., Habib, A., Burke, A., Lawson, J.A., Kapoor, S., and FitzGerald, G.A. (2000). Effect of regulated expression of human cyclooxygenase isoforms on eicosanoid and isoeicosanoid production in inflammation. *J. Clin. Invest.* 105, 1473–1482.
- Messinger, R.B., Naik, A.K., Jagodic, M.M., Nelson, M.T., Lee, W.Y., Choe, W.J., Orestes, P., Latham, J.R., Todorovic, S.M., and Jevtovic-Todorovic, V. (2009). In vivo silencing of the CaV3.2 T-type calcium channels in sensory neurons alleviates hyperalgesia in rats with streptozocin-induced diabetic neuropathy. *Pain* 145, 184–195.
- Michael, G.J., Averill, S., Nitkunan, A., Rattray, M., Bennett, D.L., Yan, Q., and Priestley, J. V (1997). Nerve growth factor treatment increases brain-derived neurotrophic factor selectively in TrkA-expressing dorsal root ganglion cells and in their central terminations within the spinal cord. *J. Neurosci.* 17, 8476–8490.
- Moalem, G., Xu, K., and Yu, L. (2004). T lymphocytes play a role in neuropathic pain following peripheral nerve injury in rats. *Neuroscience* 129, 767–777.
- Nassar, M.A., Stirling, L.C., Forlani, G., Baker, M.D., Matthews, E.A., Dickenson, A.H., and Wood, J.N. (2004). Nociceptor-Specific Gene Deletion Reveals a Major Role for Nav1.7 (PN1) in Acute and Inflammatory Pain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 101, 12706–12711.
- Nathan, C.F. (1987). Secretory products of macrophage. *J. Clin. Invest.* 79, 319–326. *
- Oprée, a, and Kress, M. (2000). Involvement of the proinflammatory cytokines tumor necrosis factor- α , IL-1 β , and IL-6 but not IL-8 in the development of heat hyperalgesia: effects on heat-evoked calcitonin gene-related peptide release from rat skin. *J. Neurosci.* 20, 6289–6293.
- Pannell, M., Labuz, D., Celik, M.O., Keye, J., Batra, A., Siegmund, B., and Machelska, H. (2016). Adoptive transfer of M2 macrophages reduces neuropathic pain via opioid peptides. *J. Neuroinflammation* 13, 262.
- Payne, R. (2000). Limitations of NSAIDs for pain management: Toxicity or lack of efficacy? *J. Pain* 1, 14–18.
- Pinho-Ribeiro, F.A., Zarpelon, A.C., Mizokami, S.S., Borghi, S.M., Bordignon, J., Silva, R.L., Cunha, T.M., Alves-Filho, J.C., Cunha, F.Q., Casagrande, R., et al. (2016). The citrus flavonone naringenin reduces lipopolysaccharide-induced inflammatory pain and leukocyte recruitment by inhibiting NF-kappaB activation. *J. Nutr. Biochem.* 33, 8–14.
- Polyzoidis, S., Koletsa, T., Panagiotidou, S., Ashkan, K., and Theoharides, T.C. (2015). Mast cells in meningiomas and brain inflammation. *J. Neuroinflammation* 12, 170.
- Premkumar, L.S., and Ahern, G.P. (2000). Induction of vanilloid receptor channel activity by protein kinase C. *Nature* 408, 985–990.
- Rather, L.J. (1971). Disturbance of function (functio laesa): the legendary fifth cardinal sign of inflammation, added by Galen to the four cardinal signs of Celsus. *Bull. N. Y. Acad. Med.* 47, 303–322.
- Ribeiro, R.A., Vale, M.L., Thomazzi, S.M., Paschoalato, A.B.P., Poole, S., Ferreira, S.H., and Cunha, F.Q. (2000). Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic acid in mice. *Eur. J. Pharmacol.* 387, 111–118.

- Rukwied, R., Chizh, B.A., Lorenz, U., Obreja, O., Margarit, S., Schley, M., and Schmelz, M. (2007). Potentiation of Nociceptive Responses to Low pH Injections in Humans by Prostaglandin E2. *J. Pain* 8, 443–451.
- Samad, T.A., Moore, K.A., Sapirstein, A., Billet, S., Allchorne, A., Poole, S., Bonventre, J. V, and Woolf, C.J. (2001). Interleukin-1 β -mediated induction of Cox-2 in the CNS contributes to inflammatory pain hypersensitivity. *Nature* 410, 471–475.
- Sauer, R.-S., Hackel, D., Morschel, L., Sahlbach, H., Wang, Y., Mousa, S.A., Roewer, N., Brack, A., and Rittner, H.L. (2014). Toll like receptor (TLR)-4 as a regulator of peripheral endogenous opioid-mediated analgesia in inflammation. *Mol. Pain* 10, 1–15.
- Shi, X., Wang, L., Li, X., Sahbaie, P., Kingery, W.S., and Clark, J.D. (2011). Neuropeptides contribute to peripheral nociceptive sensitization by regulating interleukin-1 β production in keratinocytes. *Anesth. Analg.* 113, 175–183.
- Schmelz, M., Schmidt, R., Bickel, a, Handwerker, H.O., and Torebjörk, H.E. (1997). Specific C-receptors for itch in human skin. *J. Neurosci.* 17, 8003–8008.
- Simone, D. a, Alreja, M., and LaMotte, R.H. (1991). Psychophysical studies of the itch sensation and itchy skin (“alloknesis”) produced by intracutaneous injection of histamine. *Somatosens. Mot. Res.* 8, 271–279.
- Sorkin, L., Xiao, W.-H., Wagner, R., and Myers, R. (1997). Tumour necrosis factor- α induces ectopic activity in nociceptive primary afferent fibres. *Neuroscience* 81, 255–262.
- Stein, C., and Lang, L.J. (2009). Peripheral mechanisms of opioid analgesia. *Curr. Opin. Pharmacol.* 9, 3–8. *
- Story, G.M., Peier, A.M., Reeve, A.J., Eid, S.R., Mosbacher, J., Hricik, T.R., Earley, T.J., Hergarden, A.C., Andersson, D.A., Hwang, S.W., et al. (2003). ANKTM1, a TRP-like channel expressed in nociceptive neurons, is activated by cold temperatures. *Cell* 112, 819–829.
- Talbot, S., Foster, S.L., and Woolf, C.J. (2016). Neuroimmunity: Physiology and Pathology. *Annu. Rev. Immunol.* 34, 421–447. **
- Teixeira, J.M., de Oliveira-Fusaro, M.C.G., Parada, C.A., and Tambeli, C.H. (2014). Peripheral P2X7 receptor-induced mechanical hyperalgesia is mediated by bradykinin. *Neuroscience* 277, 163–173.
- Teixeira, J.M., Dias, E.V., Parada, C.A., and Tambeli, C.H. (2017). Intra-Articular Blockade of P2X7 Receptor Reduces the Articular Hyperalgesia and Inflammation in the Knee Joint Synovitis Especially in Female Rats. *J. Pain* 18, 132–143.
- Theodosiou, M., Rush, R.A., Zhou, X.F., Hu, D., Walker, J.S., and Tracey, D.J. (1999). Hyperalgesia due to nerve damage: Role of nerve growth factor. *Pain* 81, 245–255.
- Tian, B., Nowak, D.E., and Brasier, A.R. (2005). A TNF-induced gene expression program under oscillatory NF-kappaB control. *BMC Genomics* 6, 137.
- Tokunaga, A., Saika, M., and Senba, E. (1998). 5-HT(2A) receptor subtype is involved in the thermal hyperalgesic mechanism of serotonin in the periphery. *Pain* 76, 349–355.
- Tóth, D.M., Szoke, É., Bölcskei, K., Kvell, K., Bender, B., Bosze, Z., Szolcsányi, J., and Sándor, Z. (2011). Nociception, neurogenic inflammation and thermoregulation in TRPV1 knockdown transgenic mice. *Cell. Mol. Life Sci.* 68, 2589–2601.

- Ulmann, L., Lè Ne Hirbec, H., and Ois Rassendren, F. (2010). P2X4 receptors mediate PGE2 release by tissue-resident macrophages and initiate inflammatory pain. *EMBO J.* 29/26, 2290–2300.
- Valério, D.A., Georgetti, S.R., Magro, D.A., Casagrande, R., Cunha, T.M., Vicentini, F.T.M.C., Vieira, S.M., Fonseca, M.J. V., Ferreira, S.H., Cunha, F.Q., et al. (2009). Quercetin Reduces Inflammatory Pain: Inhibition of Oxidative Stress and Cytokine Production. *J. Nat. Prod.* 72, 1975–1979.
- Vardeh, D., Wang, D., Costigan, M., Lazarus, M., Saper, C.B., Woolf, C.J., Fitzgerald, G.A., and Samad, T.A. (2009). COX2 in CNS neural cells mediates mechanical inflammatory pain hypersensitivity in mice. *J. Clin. Invest.* 119, 287–294.
- Vellani, V., Zachrisson, O., and McNaughton, P.A. (2004). Functional bradykinin B1 receptors are expressed in nociceptive neurones and are upregulated by the neurotrophin GDNF. *J. Physiol.* 560, 391–401.
- Vogel, D.Y.S., Heijnen, P.D.A.M., Breur, M., de Vries, H.E., Tool, A.T.J., Amor, S., and Dijkstra, C.D. (2014). Macrophages migrate in an activation-dependent manner to chemokines involved in neuroinflammation. *J. Neuroinflammation* 11, 23.
- Wagner, R., and Meyers, R. (1996). Endoneurial injection of TNF-alfa produces neuropathic pain behaviors. *Neuroreport*.
- Waldmann, R., and Lazdunski, M. (1998). H⁺-gated cation channels : neuronal acid sensors in the NaC / DEG family of ion channels I\ . *Curr. Opin. Neurobiol.* 8, 418–424.
- Waldmann, R., Bassilana, F., de Weille, J., Champigny, G., Heurteaux, C., and Lazdunski, M. (1997a). Molecular Cloning of a Non-inactivating Proton-gated Na⁺ Channel Specific for Sensory Neurons. *J. Biol. Chem.* 272, 20975–20978.
- Waldmann, R., Champigny, G., Bassilana, F., Heurteaux, C., and Lazdunski, M. (1997b). A proton-gated cation channel involved in acid-sensing. *Nature* 386, 173–177.
- Walsh, L.J., Trinchieri, G., Waldorf, H. a, Whitaker, D., and Murphy, G.F. (1991). Human dermal mast cells contain and release tumor necrosis factor alpha, which induces endothelial leukocyte adhesion molecule 1. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 88, 4220–4224.
- Wang, X.-M., Hamza, M., Wu, T.-X., and Dionne, R.A. (2009). Upregulation of IL-6, IL-8 and CCL2 gene expression after acute inflammation: Correlation to clinical pain. *Pain* 142, 275–283.
- Watkins, L.R., Goehler, L.E., Relton, J.K., Tartaglia, N., Silbert, L., Martin, D., and Maier, S.F. (1995). Blockade of interleukin-1 induced hyperthermia by subdiaphragmatic vagotomy: evidence for vagal mediation of immune-brain communication. *Neurosci. Lett.* 183, 27–31.
- West, A.P., Brodsky, I.E., Rahner, C., Woo, D.K., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., Walsh, M.C., Choi, Y., Shadel, G.S., and Ghosh, S. (2011). TLR signalling augments macrophage bactericidal activity through mitochondrial ROS. *Nature* 472, 476–480.
- Woolf, C.J., Allchorne, a, Safieh-Garabedian, B., and Poole, S. (1997). Cytokines, nerve growth factor and inflammatory hyperalgesia: the contribution of tumour necrosis factor alpha. *Br. J. Pharmacol.* 121, 417–424.
- Xu, X.J., Hao, J.X., Andell-Jonsson, S., Poli, V., Bartfai, T., and Wiesenfeld-Hallin, Z. (1997). Nociceptive responses in interleukin-6-deficient mice to peripheral inflammation and peripheral nerve section. *Cytokine* 9, 1028–1033.

- Yang, Y., Wang, Y., Li, S., Xu, Z., Li, H., Ma, L., Fan, J., Bu, D., Liu, D., Fan, Z., et al. (2004). Mutations in SCN9A, encoding a sodium channel alpha subunit, in patients with primary erythralgia. *J. Med. Genet.* *41*, 171–174.
- Zachwieja, J., Zaniew, M., Runowski, D., Lewandowska-Stachowiak, M., Stefaniak, E., and Siwińska, A. (2005). Abnormal cytokine synthesis as a consequence of increased intracellular oxidative stress in children treated with dialysis. *Nephron - Clin. Pract.* *101*, 100–109.
- Zimmermann, K., Leffler, A., Babes, A., Cendan, C.M., Carr, R.W., Kobayashi, J.I., Nau, C., Wood, J.N., and Reeh, P.W. (2007). Sensory neuron sodium channel Nav1.8 is essential for pain at low temperatures. *Neuroforum* *13*, 100–101.
- Zuo, Y., Perkins, N.M., Tracey, D.J., and Geczy, C.L. (2003). Inflammation and hyperalgesia induced by nerve injury in the rat: A key role of mast cells. *Pain* *105*, 467–479.

* Sekundární citace

** Zdroje obrázků